

**This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- **BLACK BORDERS**
- **TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- **FADED TEXT**
- **ILLEGIBLE TEXT**
- **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- **COLORED PHOTOS**
- **BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS**
- **GRAY SCALE DOCUMENTS**

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**

(19)日本国特許庁(J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平5-240872

(43)公開日 平成5年(1993)9月21日

(51)Int.Cl. ⁴	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
G 0 1 N 35/08	D	8310-2 J		
C 1 2 M 1/34	F	7229-4 B		
	B	7229-4 B		
G 0 1 N 1/00	1 0 1 G	8105-2 J		
21/01	Z	7370-2 J		

審査請求 未請求 請求項の数20(全 13 頁) 最終頁に続く

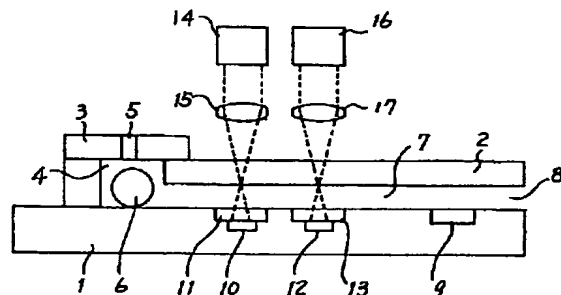
(21)出願番号	特願平4-264895	(71)出願人	000001007 キャノン株式会社 東京都大田区下丸子3丁目30番2号
(22)出願日	平成4年(1992)10月2日	(72)発明者	宮崎 健 東京都大田区下丸子3丁目30番2号キャノン株式会社内
(31)優先権主張番号	特願平3-316481	(72)発明者	西村 松臣 東京都大田区下丸子3丁目30番2号キャノン株式会社内
(32)優先日	平3(1991)11月29日	(72)発明者	高山 秀人 東京都大田区下丸子3丁目30番2号キャノン株式会社内
(33)優先権主張国	日本(J P)	(74)代理人	弁理士 丸島 儀一
			最終頁に続く

(54)【発明の名称】 サンプル測定デバイス及びサンプル測定システム

(57)【要約】

【目的】 液体試料の流路のデッドスペースを極力小さくして必要サンプル量の微量化を達成した小型集約化されたサンプル測定用のカートリッジ及びこれを用いた測定システムを提供すること。

【構成】 サンプルを注入する注入口5と、注入されたサンプルが蓄積され試薬担体6が封入される蓄積部4と、蓄積部において試薬6と反応した反応液が流され、途中の測定位置に受光素子10、12を有する流通部7と、流通部7内の液体の送液作用を有し、流通部7の測定位置の下流のノズル8付近に設けられた発熱素子であるマイクロポンプ9が、カートリッジとして半導体製造プロセスなどの製法を用いて一体集約的に形成されている。



【特許請求の範囲】

【請求項1】 サンプルを注入する注入口、

前記注入されたサンプルが流され、途中に測定位置を含む流通部、

前記流通部内のサンプルの送り作用を有し、前記流通部の測定位置の下流に設けられたマイクロポンプ、を有することを特徴とするサンプル測定デバイス。

【請求項2】 前記マイクロポンプは流通部に設けられた発熱素子を有する請求項1のデバイス。

【請求項3】 前記測定位置近傍に感応素子が設けられている請求項1のデバイス。

【請求項4】 前記感応素子は流通部の流れ方向に沿って複数個設けられる請求項3のデバイス。

【請求項5】 前記感応素子は受光素子であり、該受光素子に手前に光学フィルタが設けられる請求項4のデバイス。

【請求項6】 前記測定位置の上に集光作用を有する光学機能部が形成されている請求項1のデバイス。

【請求項7】 前記光学機能部は外部から与えられた平行光束を、流通部の測定位置に集光する作用を有する請求項6のデバイス。

【請求項8】 前記注入されたサンプルを蓄積する蓄積部を更に有し、該蓄積部には試薬が封入されている請求項1のデバイス。

【請求項9】 前記試薬は生体関連物質を含む請求項8のデバイス。

【請求項10】 前記サンプルと共にシース液を導入する導入口を有し、前記流通部でシースフローを形成する請求項1のデバイス。

【請求項11】 前記流通部が複数並列にアレイ化して形成されている請求項1のデバイス。

【請求項12】 請求項1のデバイスを半導体製造プロセスを含む工程によって作成したことを特徴とするサンプル測定デバイスの製造方法。

【請求項13】 前記半導体製造プロセスは、リソグラフィを含む方法により基板上にパターンを形成する工程と、該基板を別の基板と接合する工程を含む請求項12の製造方法。

【請求項14】 サンプル測定のためのカートリッジを保持する保持機構、

該カートリッジのサンプル測定を行う測定手段、

を有し、前記カートリッジは、

サンプルを注入する注入口、

前記注入されたサンプルが流され、途中に測定位置を含む流通部、

前記流通部内のサンプルの送り作用を有し、前記流通部の測定位置の下流の出口付近に設けられたマイクロポンプ、を有することを特徴とするサンプル測定システム。

【請求項15】 前記測定手段は、前記測定位置に測定エネルギーを与える手段を有する請求項14のシステム。

【請求項16】 前記測定エネルギーは光エネルギーを有する請求項15のシステム。

【請求項17】 前記測定手段は、分光素子と受光素子を有する請求項16のシステム。

【請求項18】 前記測定位置から発する光を受ける受光素子がカートリッジ内部に設けられる請求項16のシステム。

【請求項19】 前記測定位置から発する光を受ける受光素子がカートリッジ外部に設けられる請求項16のシステム。

【請求項20】 前記カートリッジに測定用の平行光束を与える手段を有し、前記カートリッジには該平行光束を前記測定位置に集光する光学機能部が設けられる請求項16のシステム。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は例えば、サンプル中の成分を抗原抗体反応や核酸ハイブリダイゼーション反応などを利用して測定したり、細胞や微生物、あるいは染色体などの微小物を測定する技術分野に関する。

【0002】

【従来の技術】近年の微量成分の検出の技術の進歩は、臨床検査の分野で各種疾病の早期診断や予後の診断に大きな役割を演じてきた。1958年、S. A. Bers onらによって放射線コードで標識してインスリンを定量するという方法を発表して以来、IgE、IgG、CRP、マイクログロブリン等の血漿蛋白、AFP、CEA、CA19-9等の腫瘍マーカー、TSH、T、等のホルモン類、血中薬物、HBV、HIV等のウイルス及びその検体、DNAやRNA等の核酸が測定可能になり、しかも自動化により多数の検体処理が可能になった。

【0003】これら生体微量成分の多くは、抗原抗体反応を利用した免疫学的方法、もしくは核酸-核酸ハイブリダイゼーションを利用した方法が用いられている。こうした分析方法の例を挙げると、被検出物質と特異的に結合する抗体又は抗原あるいは一本鎖の核酸をプローブとして微粒子、ビーズ、蓄積部の壁などの固相表面に固定し、被検出物質と抗原抗体反応もしくは核酸ハイブリダイゼーションを行なわせる。そして酵素、蛍光性物質、発光性物質などの検知感度の高い標識物質を担持した特異的な相互作用を持つ標識物質、例えば標識化抗体や標識化抗原又は標識化核酸などを用いて、抗原抗体化合物や二本鎖の核酸を検出して被検物質を定量するものである。

【0004】図20は上記測定を行なう従来の装置の一例を示す図である。反応槽201には表面に試薬が固定された不溶性担体202が入れられ、ここに検体液を蓄積して反応させ反応液203が作られる。反応液203は送液管204、バルブ205を通じてシリンジ型ポン

ブ206に一旦蓄えられる。次にバルブ205を切り換えて、蓄えた反応液を測定位置である光学セル207に送液する。光学セル207には光源208から光が照射され、反応液を介した光を受光素子209で検出して、反応液の呈色反応の比色測定又は蛍光測定等が行なわれる。測定後の反応液は廃液となって排出される。

【0005】一方、血液サンプル等の粒子浮遊液中に含まれる細胞粒子や染色体などの多数の微粒子を1個ずつ分離して流し、個々の粒子を光学的あるいは電気的手法を用いて測定する装置がフローサイトメータや粒子カウンタ等として実用化されている。

【0006】図21は従来のフローサイトメータの構成の一例を示す図である。試験管220には粒子浮遊液であるサンプル液が入られ、一方、シースボウル223にはPH緩衝液及び生理食塩水等のシース液が入られる。各液体は一旦シリンジ型ポンプ222、225にそれぞれ蓄えられ、次にバルブ221、224を切り換えて、蓄えた液体を押圧して送液する。サンプル液はサンプルノズル226に供給され、シース液はサンプルノズルの周囲227に供給される。シースフロー原理によってサンプル液はシース液に包まれながら流体力学的に収斂され、流通部228をサンプル液中の微粒子が1個ずつ分離されて流れる。この粒子の流れに対して光源229からの光を照射して、光照射される粒子から発する蛍光や散乱光を受光素子230、231で測光する。多数の粒子に関して順次測定を行ない、それらの出力を基に統計的手法を用いて粒子の種類や性質など解析を行なう。なお、明示はされていないが、1つの検体測定する毎に送液経路に洗浄液を流して経路を洗浄する必要がある、このための洗浄機構が設けられている。洗浄機構の具体例については、例えば特開平1-118748号公報などに記載されている。

【0007】

【発明が解決しようとしている課題】しかしながら上記従来の装置は、長い送液経路や押圧ポンプなどがあるため流路のデッドスペースが避けられず無駄な検体液を必要としてしまう。多量の検体液の使用に伴って廃液の発生量も多くなってしまいが、これはバイオハザード等の環境問題の点で好ましいものではない。

【0008】又、上記従来の装置では検体液を測定部に供給するのに各液を加圧供給しているが、そのための配管及びポンプ等の加圧機構が必要なため、装置が大掛かりで制御が複雑になり、装置の小型化には限界がある。更には、測定部にフローを形成するのに、あるいはフローを止めるのにある程度のタイムラグがあり制御応答性が悪い。

【0009】本発明は上記課題に鑑み以下のような目的を有するものである。

(1) 液体試料の流路のデッドスペースを極力小さくして、必要検体量の微量化を達成した小型集約化された測

定カートリッジ及びシステムを提供すること。

(2) 検体に損傷を与えることなく測定でき、且つバイオハザード対策などの環境問題に対処することができる測定用カートリッジ及びシステムを提供すること。

(3) 性能の安定した測定用カートリッジを低コストに提供すること。

【0010】

【課題を解決するための手段】上記課題を解決する本発明のサンプル測定デバイスのある形態は、サンプルを注入する注入口と、前記注入されたサンプルが流され、途中に測定位置を含む流通部と、前記流通部内のサンプルの送り作用を有し、前記流通部の測定位置の下流に設けられたマイクロポンプとを有することを特徴とする。

【0011】又、本発明のサンプル測定システムのある形態は、サンプル測定のためのカートリッジを保持する保持機構と、該カートリッジのサンプル測定を行う測定手段を有し、前記カートリッジは、サンプルを注入する注入口と、前記注入されたサンプルが流され、途中に測定位置を含む流通部と、前記流通部内のサンプルの送り作用を有し、前記流通部の測定位置の下流の出口付近に設けられたマイクロポンプを有することを特徴とする。

【0012】

【実施例】

<実施例1>本発明の最初の実施例として、サンプル検体を試薬と反応させ、又、必要に応じて洗浄及び反応などを繰り返して反応液を得て、この反応液を光学的に測定してサンプル検体の測定を行なうためのカートリッジについて説明する。図1は第1の実施例のカートリッジの構造を示す側面図、図2は第一基板と第二基板を上方から見た上面図、図3はカートリッジの組立図である。

【0013】本実施例のカートリッジは第一基板1と第二基板2と第三基板3とを接合した構成を有し、第一基板1はシリコン基板、第二基板2及び第三基板3はガラス基板である。これら基板の接合によってカートリッジ内部には、反応槽である蓄積部4を成す空間が形成される。第三基板3にはサンプル検体液などの液体を注入するための孔である注入口5が設けられ、外部から蓄積部4内にサンプル液を注入することができる。蓄積部4の内部には球形状で表面に試薬が固定化された不溶性担体6が封入される。不溶性担体6はガラスなどのセラミック、高分子化合物により成るプラスチック、磁性体等の金属などの材料、もしくはそれらの複合材料より成り、試薬が固定しやすいように共有結合基などを導入した表面処理がなされている。不溶性担体6の形状は球形状には限らず多面体など他の形状でもよく、その個数も一つには限らず多数存在してもよい。あるいは不溶性担体を用いずに蓄積部4の内壁面に直接試薬を固定化するようにしても良い。なお、試薬については後に詳述する。

【0014】蓄積部4には流通部7が接続され、その先端の出口はノズル開口8となっている。ノズル開口8は

先細の形状を有することによって管路抵抗作用を持たせている。ノズル開口8付近にはマイクロポンプ9が第一基板1上に形成される。マイクロポンプ9は具体的には後述の製法によって流通部に発熱素子を取り付けた構成を有する。この発熱素子にパルス電圧を与えると、発熱によって加熱されたサンプル液が瞬間的に気化して気泡が発生し、気泡が膨張収縮する際の衝撃で発生する圧力によってノズルからサンプル液が液滴となって吐出し、微量のサンプル液が流通部から排出される。そして排出された分だけ蓄積部4から流通部のノズル方向にサンプル液が引き込まれて供給される。この吐排出を高い周波数で連続的に行なうことでサンプル液の送液作用が得られ、流通部6内に流体の流れを作ることができる。

【0015】図7は気泡が発生して液滴が吐出する具体的な様子を説明するものである。図の(A)の初期状態において、発熱素子に瞬間的にパルス電圧を与えて発熱素子が加熱されると、発熱素子付近の水分が気化して(B)のように気泡が発生する。すると気化した分だけ体積が膨張して(C)の如くノズルの開口付近の液体がノズルの開口から外に押し出される。始め膨張を続けた気泡は冷却されて(D)のように収縮を始め、体積の縮小により開口から吐出した液体は(E)のように液滴となって空中を飛翔する。液体は吐出した分だけ毛细管現象によって供給され(A)の初期状態に戻る。なお、この気泡による液滴吐出の基本原理は米国特許公報第4723129号や米国特許公報第4740796号に詳細が記載されている。

【0016】なお、マイクロポンプの別形態として発熱素子を圧電素子に置き換えて、この圧電素子にパルス状の電圧を印加し、圧電素子の体積変化の衝撃によって発生する圧力で液滴を吐出させるようにしても良い。

【0017】又、第一基板1の表面には上記マイクロポンプと共にサンプル液の測定を行なうための感応素子が設けられる。具体的には光学的にサンプル液の状態を検出するために、第1の光検出素子10、波長選択機能を持った第1の光学フィルタ11、第2の光検出素子12、第2の光学フィルタ13が後述の製法によって基板上に形成される。これらの部材によってサンプル液を介して到達する第1、第2の光を選択的に受光するための光学検出部を構成している。なお本実施例では光学的にサンプル液を測定する例を示したが、これに限らず例えばサンプル液を電気的あるいは磁気的な手法を用いて測定するようにしても良い。更にはこれらを複合化して測定しても良い。この場合、図1の光学検出部と同様に、それぞれの測定に適した感応素子(電極、磁気検出素子など)を基板上に接合するようにする。

【0018】図2に示すように、第一基板1にはマイクロポンプの発熱素子9、及び第1、第2の光検出素子10、12が接合されるが、これらの素子にはそれぞれ導電パターン18、19、20が接続され、図示するよう

に第一基板1の表面上にバターニングされている。そして第一基板1と第二基板2を接合した際には導電パターン18、19、20の端部が外部に露出して、外部の端子と接触導通できるようになっている。

【0019】以上の部材は全て一体集約化されてカートリッジを構成している。カートリッジの製造方法については後述する。一方、流通部7内部のサンプル液に向けて測定エネルギーである照射光を与えてサンプル液の呈色度合を調べるため、あるいはサンプル液から蛍光や散乱光を発生させるために、図1のように光源14、16、集光レンズ15、17から成る光照射部がカートリッジとは別に設けられている。光源14、16としては例えば半導体レーザ、LED、ハロゲンランプ、タングステンランプ、水銀ランプ等が適している。なお、化学発光、生物発光など検体自ら発する光を検出して測定を行なう場合には光照射は不要であるため光照射部を設ける必要はない。

【0020】本実施例では測定位置の下流側の出口付近にマイクロポンプを設けたことによって、以下のような検体測定に特有の大きな優位性が得られる。

【0021】仮にマイクロポンプを測定位置よりも上流側に設けたとすると、ポンプ作用によって発生する変異圧力や熱によってポンプ付近の検体液や細胞粒子に変成や損傷などの悪影響を与えて、これを測定してしまう恐れがある。これに対して下流側にマイクロポンプを設けたことによって、測定前の検体に悪影響を与えることを未然に防ぐことができる。更に加えて、下流位置において測定後の廃液に対して圧力及び熱を与えているので、廃液の殺菌作用や滅菌作用が得られバイオハザード対策にも対処している。

【0022】又、出口付近にマイクロポンプを設けて、ノズルから吐出した分だけ流体を引き込むようにして流通部に流れを作っているため、安定した流体系が得られ、且つ流体制御の制御応答性も高い。更には流体系のデッドスペースが殆どなくなり使用検体量が非常に微量で済む。

【0023】ここで上記カートリッジの変形例をいくつか示す。図4は基板上に集光レンズ部21、22を一体的に形成した例である。集光レンズとしては、球面レンズ、フレネルレンズ、ゾーンプレートなどが使用できる。又、図5は照射光の導入を光ファイバー23、24を用いて行った例であり、光源とカートリッジとの光軸合わせが不要になるという特徴がある。図6は上記形態を更に発展させたもので、各々が蓄積部、流通部、各素子などから成る測定モジュールを一枚の基板上に高密度で並列に配置してアレイ化したカートリッジの例である。

【0024】次に上記カートリッジの製造方法について詳細に説明する。本実施例のカートリッジは半導体製造プロセスを含むマイクロメカニクス技術によって比較的

10

20

30

40

50

容易に製造できるため、パッチ処理による大量生産に向き、又、図6に示すようなアレイ化も容易である。製造工程は大きくは以下の4工程から成る。

【0025】(工程1) 第二基板2となるガラス基板に蓄積部4となる孔を設け、更に流通部7となる溝を形成する。ガラス基板への溝の形成方法としては、感光性ガラスを用いフォトリソグラフィにて感光するか、又はガラスをフッ酸により所望の深さまでエッチング除去することにより行う。他の方法としては、例えばガラス基板又はシリコン基板にレジストを塗布しフォトリソプロセスにより現像し固化することによりレジスト除去部を溝として用いても良い。又、蓄積部及び流通部のパターンをエッチングして形成したシリコン基板をガラス基板に陽極接合することによっても溝を形成することができる。

【0026】なお、本実施例ではガラス基板を用いてこれを加工して溝を形成したが、透光性の樹脂材料を使用してモールド製法等による成型によって第二基板を製作するようにしても良い。

【0027】(工程2) 第一基板1となるシリコン基板にマイクロポンプの発熱素子を接合する。図8はシリコン基板上に形成されるマイクロポンプの発熱素子の詳細な構成を示す。この製造工程は以下の通りである。シリコン基板31上にシリコン酸化膜を形成した後、HfB₂層32とAl層33を積層し、フォトリソプロセスを用いてそれぞれ発熱部と電極部として形成する。更に、絶縁層34としてSiO₂を、保護膜35としてTaを、電極部のワイヤーボンディング部を除いた部分に順次積層し、その後、Taのみをフォトリソプロセスにより発熱部周辺に帯状にパターン形成する。そしてTaの被覆されていないSiO₂層上に電極と検体である液体との隔離性を高めるためレジン層36をパターン形成し、ポンプ部となる発熱素子を作製する。

【0028】(工程3) 第一基板1となるシリコン基板に2つの光学検出部を接合する。図9はシリコン基板上に形成される光学検出部の詳細な構成を示す。この光学検出部の製造工程は以下の通りである。ガラス基板41上に抵抗加熱法によりCr膜42を0.1μm成膜する。基板を350℃に加熱し、SiH₄とNH₃(10CCM:20CCM)の混合ガスでプラズマCVD法によりSiN:H層43を0.3μm成膜する。同一真空中で、基板を200℃に加熱し、SiH₄ガスでプラズマCVD法によりα-Si:H層44を0.6μm成膜する。SiH₄ガスにPH₃ガスを添加してn+α-Si:H層45を0.2μm成膜する。電子ビーム蒸着法によりAl層を0.1μm成膜する。Al層をフォトリソプロセスによりパターン形成し電極46を形成する。CF₄ガスを用いRIE(反応性イオンエッチング)法にてn+α-Si:H層5に開口部を設ける。この開口部にスピンコート塗布により光学フィルタ47を形成

した後、レジスト剥離を行ない光学検出部を作製する。光学フィルタの波長選択特性は測定対象の発光波長又は蛍光波長に合わせて選ぶようにする。

【0029】なお、Cr層を裏面遮光部として用いることもできる。又、Cr層をゲート電極として用いることにより、電界効果型のセンサとして最適電流値により検出することも可能である。又、本実施例ではα-Si受光素子の例を示したが、他のpnホトダイオードやpinホトダイオード、ショットキーホトダイオード、CCD等でもかまわない。

【0030】(工程4) 図3に示すように、前記シリコン基板である第一基板1、前記ガラス基板である第二基板2、注入口の孔が設けられた第三基板3の3枚を接合する。この時、表面に試薬が固定された不溶性担体6を蓄積部4内に封入する。基板の接合方法には、接着剤による貼り合わせや、陽極接合などの方法がある。例えばはCO₂レーザ照射による陽極接合を行えば、接合温度を低くすることができ、基板への熱の悪影響を抑えることができる。

【0031】次に、本実施例に用いる試薬について詳しく述べる。試薬は蓄積部の内部に封入される不溶性担体の表面に固定化されるか、あるいは蓄積部の内部壁面に直接固定化される。本実施例で使用する試薬は少なくとも生体関連物質を含有しており、その生体関連物質の選択は分析すべき物質又は被検体によって決まる。すなわち生体関連物質は被検体に対して生物学的特異性を示すものを選択することによって特異的検出が可能となる。

【0032】ここで云う生体関連物質とは、例えば天然もしくは合成のペプチド、蛋白質、酵素、糖類、レクチン、ウイルス、細菌、DNAやRNA等の核酸、抗体などがある。その中でも臨床的には特に有用な物質として以下のものが挙げられる。IgG、IgEなどの免疫グロブリン、補体、CRP、フェリチン、α₁又はβ₂マイクログロブリンなどの血漿蛋白及びそれらの抗体、α-フェトプロテイン、癌胎児性抗原(CEA)、CA19-9、CA-125などの腫瘍マーカー及びそれらの抗体、黄体化ホルモン(LH)、卵胞刺激ホルモン(FSH)、ヒト絨毛性ゴナドトロピン(hCG)、エストロゲン、インシュリンなどのホルモン類及びそれらの抗体、ウイルス性肝炎関連抗原、HIV、ATLなどのウイルス感染関連物質及びそれらの抗体、ジフテリア菌、ボツリヌス菌、マイコプラズマ、梅毒トレポネーマなどのバクテリア類及びそれらの抗体、トキソプラズマ、トリコモナス、リーシュマニア、トリパノゾーマ、マラリア原虫などの原虫類及びそれらの抗体、フェニトイン、フェノバルビタールなどの抗てんかん薬、キニジン、ジコキシニンなどの心血管薬、テオフィリンなどの抗喘息薬、クロラムフェニコール、ゲンタマイシンなどの抗生物質などの薬物類及びそれらの抗体、その他酵素、菌体外毒素(ストレプトリジンOなど)及

びそれらの抗体などがあり、検体中の被検出物質と抗原抗体反応を起こす物質が被検出物質の種類に応じて適宜選択される。又、抗原抗体反応ではなく、核酸ハイブリダイゼーションを利用する場合には、検査対象となる核酸の塩基配列に対して相補的な塩基配列を持つ核酸プローブが用いられる。

【0033】図10は上記カートリッジを装着して測定を行なうための全体システムの構成を示す図である。上記説明したカートリッジ100はカートリッジホルダ101に装着保持される。なお図では1つのカートリッジしか示されていないが、同様のカートリッジを複数個並べて装着するか、もしくは図6のように測定モジュールをアレイ化したカートリッジを用いることによって、複数の検体を同時あるいは順次に測定することができる。

【0034】ラック103には複数の検体容器104が配列され、それぞれには複数の検体液が収容される。ディスペンサ装置102はピペット105を用いて、各検体容器104内の検体液をカートリッジ100に順に供給する。

【0035】一方、洗浄液容器106はB/F分離のための洗浄液を収容し、試薬液容器107は反応試薬液を収容する。各容器からの流路はバルブ108に接続されバルブ108でどちらかを選択切替して、選択された液体がチューブ109を介してカートリッジ100に供給される。ディスペンサ装置102のピペット105及びチューブ109は共にカートリッジ100の注入口に接続できるようになっており、所望の液体がカートリッジに供給される。

【0036】カートリッジホルダ101上には攪拌機110が取り付けられ、装着保持されたカートリッジ100の蓄積部内の検体液及び試薬を攪拌する作用を有し反応を促進させる。攪拌は例えばマグネットを利用して磁性の担体試薬を遠隔運動させたり、超音波によって検体液に振動を与えることによって行なう。

【0037】又、測定データの精度を向上させるためには、カートリッジ内の蓄積部の温度を精度よくコントロールする必要があるが、そのためにカートリッジ全体は不図示の恒温ボックス中に保持されている。又、必要に応じて洗浄水や反応試薬、検体も一定温度に保温させるよう恒温手段を講じることが好ましい。

【0038】カートリッジホルダ101には電極が設けられ、カートリッジ装着の際にカートリッジ100の露出導電パターンと接続される。この電極は駆動/検出回路111と電気的に接続されており、駆動/検出回路111は測定用の光源14、16の駆動、攪拌機110の駆動、ディスペンサ装置102の駆動、バルブ108の駆動、カートリッジ内のマイクロポンプの駆動、カートリッジ内の2つの光学検出素子からの出力の検出を行なう。コンピュータ112はシステム全体のコントロール

並びに検出結果を基にした検体測定を行なう。抗原抗体反応や核酸ハイブリダイゼーション反応等を利用して、呈色反応あるいは蛍光や散乱光などは、レートアッセイ法やエンドポイント法等の公知の手法で検出及びデータ処理される。又、予め用意しておいた検量線データと比較処理も行なわれる。この解析結果はコンピュータ156に付属のディスプレイやプリンタ等に出力する。

【0039】マイクロポンプを駆動して測定する際にはカートリッジ100のノズルから廃液が吐出されるが、これは廃液容器113で受けて容器内に廃液を収容する。本実施例ではマイクロポンプとして発熱素子を用いているので、発熱作用及び気泡発生による圧力作用によって吐出する廃液は殺菌もしくは滅菌されるが、廃液容器113内でも熱や紫外線あるいは薬剤などの手段を用いて廃液に殺菌作用を施せば更に好ましい。

【0040】このように本システムはカートリッジ100をディスポザブルとして、1検体の測定毎に新しいものに交換するため、システムが簡略化され小型低コストの検体測定システムとなっている。又、ディスポザブル化することでマイクロポンプや感応素子にさほど耐久性が要求されず、より低コストでカートリッジを供給することができる。

【0041】以下に上記測定システムによる測定例として、サンプル検体中の特定DNAを検出する工程を示す。

【0042】(工程1) 目的とする特定DNA(一本鎖)と特異的にハイブリダイゼーション反応を行う一本鎖DNAプローブが試薬として蓄積部に固定されるカートリッジを用意する。このカートリッジを測定システムのカートリッジホルダに装着すると、ディスペンサ装置のピペットが、予め前処理によって一本鎖に編成された多数のDNAを含む検体液をカートリッジの蓄積部に自動的に注入する。

【0043】(工程2) 測定システムに設けられる攪拌手段によってカートリッジの蓄積部中のサンプル液を攪拌して反応を促進させる。もし検体液中に目的とする一本鎖DNAが存在すれば、蓄積部に固定化されたDNAプローブと特異的にハイブリダイゼーション反応を起こし2本鎖DNAを生成する。

【0044】(工程3) ハイブリダイゼーション反応しなかった一本鎖DNAを除去するために、洗浄液の注入・排出を行なってB/F分離を行う。

【0045】(工程4) 次いで酵素標識プローブを蓄積部に注入し、前記ハイブリダイゼーション反応によって生成された二本鎖DNAを特異的に酵素標識する。

【0046】(工程5) 再度、洗浄によってB/F分離を行ない過剰の酵素標識プローブを洗い流す。

【0047】(工程6) 前記酵素標識と反応して呈色反応、あるいは蛍光発光や化学発光を示す基質を含む試薬液を蓄積部に注入して反応させる。

【0048】(工程7) カートリッジのマイクロポンプを作動させて、(工程6)の反応液を流通部に流す。そして呈色反応あるいは蛍光や化学発光の光を受光素子で検出して、検出光量から目的のDNA量を定量することができる。又、レートアッセイ法を用いて検出光量の時間的変化を測定することにより、より正確に定量できる。

【0049】上記説明した検体測定カートリッジ及びシステムによれば以下の効果が得られる。

(1) 測定位置の下流側にマイクロポンプを設けたため、検体液に対して変成や損傷を与えることなく測定を行なうことができ、且つ測定後の廃液に変異圧力や加熱を与えることによって殺菌作用もしくは滅菌作用が得られる。

(2) 安定した流体系が得られ、更には流体制御の制御応答性も高い。更には流路のデッドスペースが殆ど無いため使用する検体液が微量で済む。

(3) 廃液の発生量が少なく、且つそれも殺菌又は滅菌されたものであるためバイオハザード対策等の環境問題の観点からも好ましい。

(4) 半導体製造プロセスを利用してバッチ生産が可能となり、品質の安定したカートリッジを安価に大量生産することができる。

(5) 受光素子を一体化することにより、光学系のアライメント調整が不要となる。

(6) 検体測定機能を集約したカートリッジを安価に供給して、1検体測定する毎にカートリッジを交換するために流体系の構成が簡略になり、測定システム全体が非常にコンパクトで信頼性の高いものとなる。

【0050】<実施例2>次に本発明の別の実施例として、サンプル液とシース液によって流通部内にシースフローを生成してサンプル中の個々の微粒子(例えば血球細胞や染色体など)を順次測定する粒子測定用のカートリッジの例を説明する。図11はカートリッジの構造を示す側面図、図12は上方から見た上面図である。

【0051】本実施例のカートリッジも上記実施例と同様の半導体製造プロセスを含むマイクロメカニクス技術によって製造される。カートリッジは第一基板51と第二基板52とを接合した構成を有し、第一基板51はシリコン基板、第二基板52がガラス基板である。第二基板52の上面には測定する微粒子が浮遊するサンプル液を受けるサンプル受容部53が形成され、そこにサンプル管54が接続されている。サンプル管54の先端は流通部56内に突出している。又、生理食塩水や蒸留水等のシース液を供給するためにシース液供給口55が設けられ流通部56に繋っている。流通部56の先端の出口にはノズル開口57が形成されるが、先細の形状を有することによって管路抵抗作用を持たせている。ノズル開口57付近にはマイクロポンプ58が第一基板51上に形成される。マイクロポンプ58は具体的には先の実施例

と同様の製法によって流通部に発熱素子(あるいは圧電素子)を取り付けた構成を有し、吐排出を高い周波数で連続的に行なうことでサンプル液の送液作用が得られる。更にマイクロポンプの発熱素子によるサンプル液の加熱及び加圧を利用して、測定の済んだサンプル液の殺菌作用もしくは滅菌作用を得ており、バイオハザード対策の観点からも好ましいものとなっている。

【0052】この送液作用によって流通部56内には流体の流れが形成されるが、その際、シースフロー原理によってサンプル液がシース的に包まれるようにして細い流れとなって、サンプル液中の微粒子が流通部内を1個ずつ順に流れる。

【0053】第一基板51の表面には上記マイクロポンプ58と共にサンプル液中の微粒子の測定を行なうための感応素子が設けられる。具体的には光学的に微粒子を測定するために、第1の光検出素子59、波長選択機能を持った第1の光学フィルタ60、第2の光検出素子61、第2の光学フィルタ62が上記実施例と同様の製法で形成され、微粒子からの蛍光や散乱光を検出する。光検出素子には光源より入射する直接光を遮るための光ストッパが設けることが好ましい。更には電氣的に微粒子を測定するために、2つの電極63、64が基板上に形成され両者間の電気インピーダンスを測定するようになっている。電気インピーダンスの測定値には主に粒子の体積情報が含まれている。以上の部材によってサンプル液中の微粒子を測定する測定部を構成している。なお本実施例では光学的及び電氣的に微粒子を測定する例を示したが、これに限らず例えば磁氣的な手法を用いて測定するようにしても良い。

【0054】図12に示すように、第一基板51にはマイクロポンプの発熱素子58、第1、第2の光検出素子59、61、電極63、64が接合されるが、これらの素子には先の実施例と同様にそれぞれ導電パターンが接続され、この導電パターンの端部74が外部に露出して、外部の端子と接触導通できるようになっている。

【0055】以上の部材は全て一体化されてカートリッジとなってカートリッジを構成している。一方、流通部7内部を流れる微粒子に向けて測定エネルギーである照射光を与えるための光源として、図11のように光源65、67がカートリッジとは別に設けられている。光源14、16は蛍光励起に適した波長の光を生成するものが使用され、例えば半導体レーザ等が適している。光源からの光束を集光するレンズ部66、68は第2の基板上面に一体的に形成されている。なお光照射部の形態はこれに限らず、先の実施例のように色々なバリエーションが考えられる。又、図6のような測定モジュールのレイアウトも容易である。

【0056】図13、図14は上記カートリッジの変形例を示し、それぞれ側面図、上面図である。この例ではシース液と共にサンプル液も外部から供給され、サン

ル管70の一方の端部はカートリッジ外部に露出し、外部のサンプル供給機構と接続される。又、2つの光学検出部の両側面には、微粒子への光照射によって側方に発散する蛍光や散乱光を受光するために光ファイバ70、71、72、73が埋め込まれ、フォトマルチプライヤ等の不図示の検出素子に導かれる。又、ノズル開口57は上方に向けて液滴を吐出するよう上面基板に孔を開けた構成となっている。その他の構成は上記実施例と同様である。

【0057】図15は上記カートリッジを装着して測定を行なうための全体システムの構成を示す図である。上記説明したカートリッジ100はカートリッジホルダ101に装着保持される。なお図では1つのカートリッジしか示されていないが、同様のカートリッジを並列に複数個並べて装着するか、もしくは図6のようにアレイ化したカートリッジを用いることによって、複数の検体を同時あるいは順次に測定することができる。

【0058】ラック103には複数の検体容器104が配列され、それぞれには予め前処理（精製処理や試薬との反応など）の済んだ複数のサンプル液が収容される。ディスペンサ装置102はビベット105を用いて、各検体容器104内の検体液をカートリッジ100に順に供給する。

【0059】一方、PH緩衝液／生理食塩水や蒸留水等のシース液を内部に収容するシース液容器114には、流量を制御するレギュレータ115を介してチューブ109が接続され、チューブ109の先端部はホルダ101に装着されたカートリッジ100のシース液供給口に接続される。レギュレータ115の調整によりシースフローの状態が制御される。

【0060】カートリッジホルダ101には電極が設けられ、カートリッジ装着の際にカートリッジ100の露出導電パターンと接続される。この電極は駆動／検出回路111と電気的に接続されており、駆動／検出回路111は光源65、67の駆動、ディスペンサ装置102の駆動、レギュレータ115の駆動、カートリッジ内のマイクロポンプの駆動、カートリッジ内の2つの光学検出素子からの出力の検出、及び2つの電極間の電気インピーダンスの検出を行なう。コンピュータ112はシステム全体のコントロール並びに検出結果を基にした粒子解析を行なう。個々の粒子の測定によって多数の検出データが得られるが、このデータを用いた粒子の解析方法として、例えばヒストグラムやサイトグラム等の統計的手法を用いた様々な解析方法が公知である。解析結果はコンピュータ112に付属のディスプレイやプリンタ等に出力する。

【0061】マイクロポンプを駆動して測定する際にはカートリッジ100のノズルから廃液が吐出されるが、これは廃液容器113で受けて容器内に廃液を収容する。本実施例ではマイクロポンプとして発熱素子を用い

ているので、発熱作用及び気泡発生の圧力作用によって吐出する廃液は殺菌もしくは滅菌されるが、廃液容器113内でも熱や紫外線あるいは薬剤などの手段を用いて廃液に殺菌作用を施せば更に好ましい。

【0062】このように本システムはカートリッジ100をディスポザブルとして、1検体の測定毎に新しいものに交換するため、システムが簡略化され小型低コストの検体測定システムとなっている。又、ディスポザブル化することでマイクロポンプや感応素子にさほど耐久性が要求されず、より低コストでカートリッジを供給することができる。本実施例のカートリッジ及びシステムでも、先の実施例と同様にさまざまな効果が得られる。

【0063】＜実施例3＞図16は更なる実施例の測定システムの構成を示す。同図において、150はフレーム、151はホルダであり、図面はカートリッジ100がホルダ151に装着された状態を示しており、1検体測定毎にカートリッジは交換される。カートリッジ100は上記説明したいずれかのものとはほぼ同様の構造であるが、上面に集光レンズ120が形成されている。この集光レンズ120は球面レンズやフレネルレンズ、ゾーンプレートなどが利用できる。152は半導体レーザやランプ等の光源、153は光源152からの光を平行光束に変換するためのレンズ、154はハーフミラー、155は集光レンズ、156は受光素子である。

【0064】この構成において、光源152から出射した光はレンズ153で平行光に変換される。この光はハーフミラー154を透過し、カートリッジ100の集光レンズ120に達する。平行光は集光レンズ120によって流路121に集光され、流路のサンプルに集光光が光照射される。ここで照射によってサンプルから全方位に発する散乱光や蛍光の内、再び集光レンズ120で集光されて平行光になりハーフミラー154で反射した成分はレンズ155で集光され、受光素子156で光電変換され測定データを得る。受光素子156の手前には不図示の波長フィルタが配され、目的とする蛍光や散乱光成分のみを抽出するようになっている。なお、ハーフミラー154の代わりに、照射光波長を透過、目的蛍光波長を反射するような特性のダイクロイックミラーに置き換えても良い。

【0065】ここで本実施例の特徴を説明する。本実施例のシステムを実用化するにあたって、カートリッジをホルダ151に装着した際のメカ的な装着位置精度は、一般には水平方向に数10 μ m～数100 μ m程度である。すると光源152から照射される光束の光軸と、ホルダに装着されたカートリッジの流路121の中心軸とは前述のメカ的な精度分だけ相対的なずれを生じる可能性がある。この時、仮に照射光が平行光ではないとすると、図17(b)のようにカートリッジと照射光との相対ずれに応じて照射光の集光位置が変化してしまう。ここでカートリッジの流路121の幅を例えば10 μ mと

すると、場合によっては集光位置が流路121から外れる可能性もあり、集光位置の変化が測定精度に大きく影響を及ぼすことになる。

【0066】これに対して本実施例では、カートリッジに入射する光が平行光であることを特徴とし、この光が集光レンズ120により流路121の中心位置に集光するようになっている。これによって、図17(a)のように照射光は常に流路121の一定位置に集光されることになり、カートリッジの装着位置精度に影響を受けない。

【0067】図18は図16の変形例の測定システム構成を示す。これは先の図16のシステムと類似するが受光系が異なり、より詳細な測定データを得るようになっている。図16と同一の符号は同一部材を表わし、同一部材についての説明は省略する。図18において、160はグレーティングやプリズム等の分光素子、161はレンズ、162は分光された各波長成分を個別に受光するためのアレイ型受光素子である。先の実施例と同様にカートリッジのサンプルに光が集光照射されると、サンプルから蛍光や散乱光が発生する。この内、再び集光レンズ120で集光されて平行光になりハーフミラー154で反射した成分は分光素子160で分光され、レンズ161を介して各波長成分毎に受光素子162で個別に検出される。こうして得られたデータを基に、より詳細な解析が可能となる。

【0068】図19は図18の変形例の測定システム構成を示す図である。本実施例では、カートリッジ自体に集光機能と分光機能を持たせたことを特徴とする。図19において170は照射光を生成するための光源で、発光素子やレンズ等を含んでいる。171は光源170からの照射光を、ホルダ151に装着されたカートリッジ100の測定位置に指向するための反射ミラーである。これら光源170、ミラー171からなる照射系はフレーム150の下部に内蔵されている。又、フレーム150の上部にはレンズ161、アレイ型受光素子162からなる受光系が設けられている。一方、カートリッジ100には屈折率分布型レンズ175、更にその上にはグレーティングやプリズム等の分光素子176が設けられている。なお、レンズ175と分光素子176の組を集光機能と分光機能を兼ね備えるゾンプレートに置き換

えることもできる。

【0069】この構成では、装着したカートリッジ100のサンプルに対して下方から光照射される。そして発生する蛍光は屈折率分布型レンズ175で集光され平行光になり、分光素子176で分光される。この光はカートリッジ100の上方のアレイ型受光素子162で各波長成分毎に受光される。

【0070】

【発明の効果】測定位置の下流側にマイクロポンプを設けたため、検体液に対して変成や損傷を与えることなく

測定を行なうことができ、且つ測定後の検体液に圧力や加熱を与えることによって殺菌作用もしくは滅菌作用が得られる。

【0071】又、安定した流体系が得られ、更には流体制御の制御応答性も高い。更には流路のデッドスペースが殆ど無いため使用する検体液が微量で済む。

【0072】よって廃液の発生量が少なく、且つそれも殺菌又は滅菌されたものであるのでバイオハザード対策等の環境問題の観点からも本発明の効果は大きい。

10 【図面の簡単な説明】

【図1】実施例のカートリッジの構成を示す側面図である。

【図2】カートリッジを構成する第二基板と第一基板のそれぞれの上面図である。

【図3】カートリッジの組立図である。

【図4】実施例の第1の変形例を示す図である。

【図5】実施例の第2の変形例を示す図である。

【図6】実施例の第3の変形例を示す図である。

20 【図7】マイクロポンプの作用を説明するための図である。

【図8】マイクロポンプの発熱素子の構造を示す図である。

【図9】光学検出部の構造を示す図である。

【図10】実施例の測定システムの全体を示す図である。

【図11】第2の実施例のカートリッジの構成を示す側面図である。

【図12】第2の実施例の上面図である。

【図13】第2の実施例の変形例の側面図である。

30 【図14】第2の実施例の変形例の上面図である。

【図15】第2の実施例の測定システムの全体を示す図である。

【図16】第3の実施例の測定システムの構成を示す図である。

【図17】図16のシステムの特徴を説明するための図である。

【図18】図16の変形例の測定システムの構成を示す図である。

40 【図19】別の変形例の測定システムの構成を示す図である。

【図20】従来例の装置の構成図である。

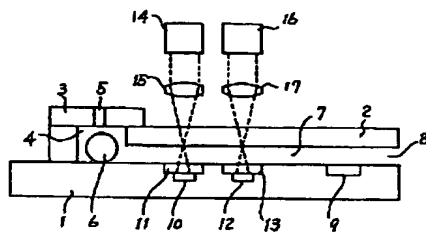
【図21】別の従来例の装置の構成図である。

【符号の説明】

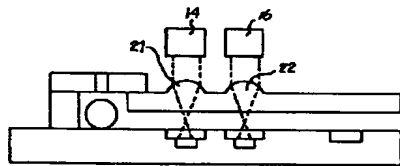
- 1 第一基板（シリコン基板）
- 2 第二基板（ガラス基板）
- 3 第三基板（ガラス基板）
- 4 蓄積部
- 5 注入口
- 6 不溶性担体試薬
- 7 流通部

- 8 ノズル開口
 9 マイクロポンプの発熱素子
 10 12 受光素子
 11 13 光学フィルタ
 14 16 光源
 15 17 集光レンズ
 21 22 集光レンズ部
 23 24 光ファイバ
 51 第一基板(シリコン基板)
 52 第二基板(ガラス基板)
 53 サンプル液受容部
 54 サンプル管

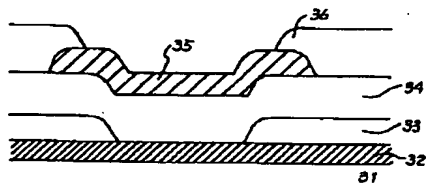
【図1】



【図4】



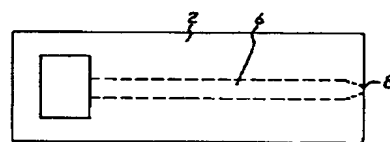
【図8】



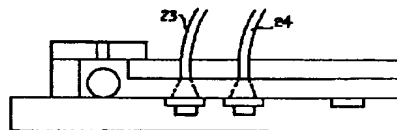
*

- * 55 シース液供給口
 56 流通部
 57 ノズル開口
 58 マイクロポンプの発熱素子
 59 61 受光素子
 60 62 光学フィルタ
 63 64 電極
 65 67 光源
 66 68 集光レンズ部
 10 70 71 72 73 光ファイバ
 74 導電パターン

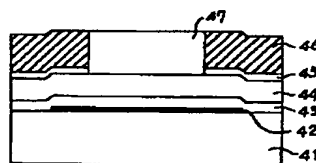
【図2】



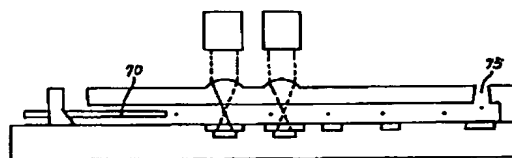
【図5】



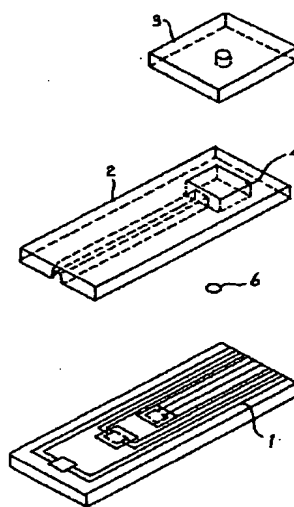
【図9】



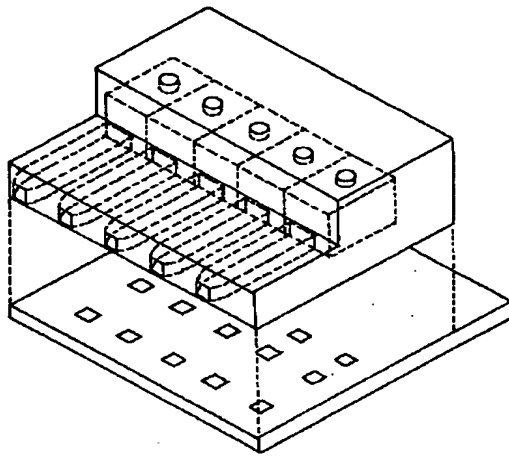
【図13】



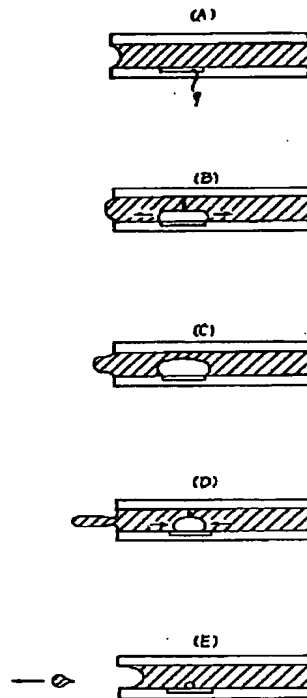
【図3】



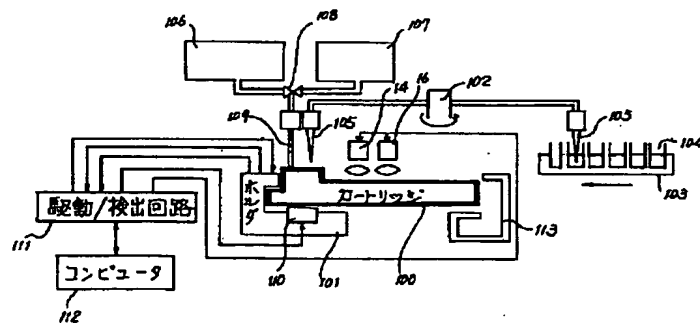
【図6】



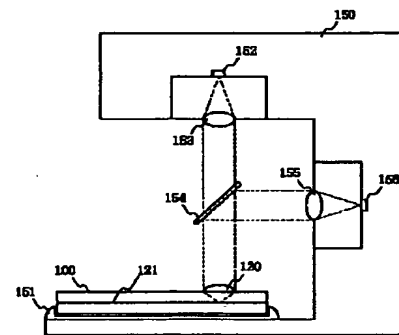
【図7】



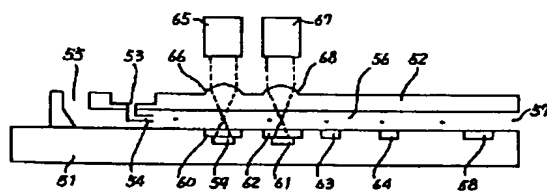
【図10】



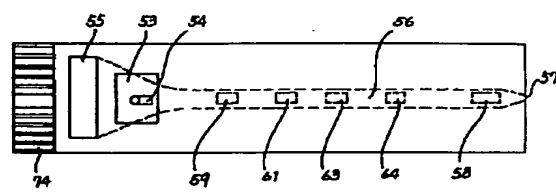
【図16】



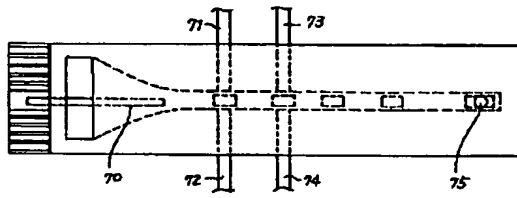
【図11】



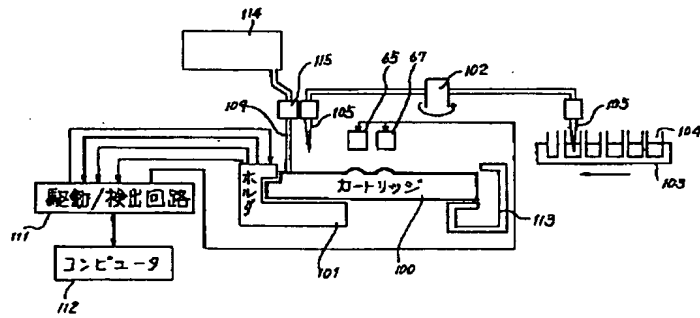
【図12】



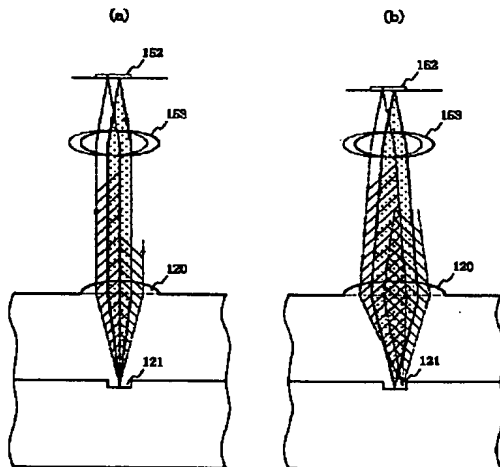
【図14】



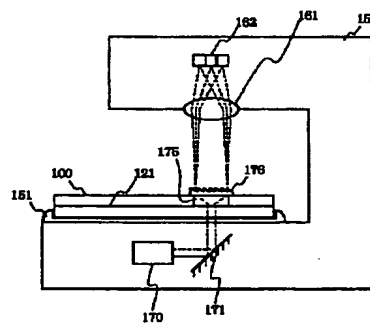
【図15】



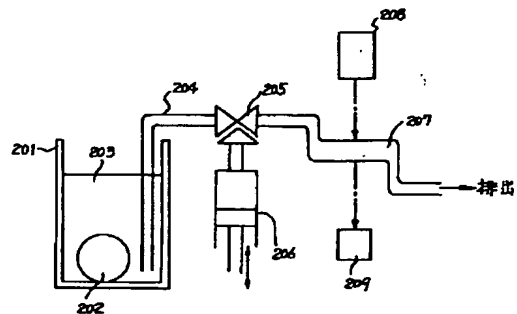
【図17】



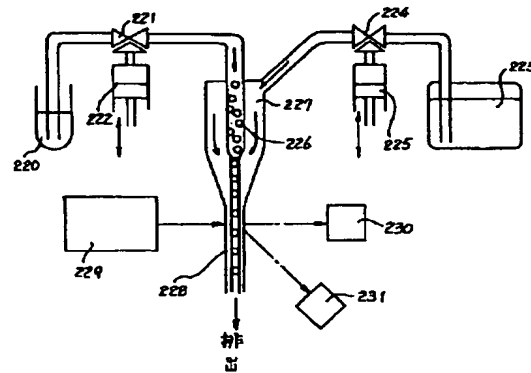
【図19】



【図20】



【図21】



フロントページの続き

(51)Int.Cl. ³	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
G 0 1 N 21/75 33/543		Z 7906-2J S 7906-2J		
(72)発明者 大西 敏一 東京都大田区下丸子3丁目30番2号キャノ ン株式会社内			(72)発明者 八木 隆行 東京都大田区下丸子3丁目30番2号キャノ ン株式会社内	
(72)発明者 田中 和寛 東京都大田区下丸子3丁目30番2号キャノ ン株式会社内			(72)発明者 米山 好人 東京都大田区下丸子3丁目30番2号キャノ ン株式会社内	
(72)発明者 桜永 昌徳 東京都大田区下丸子3丁目30番2号キャノ ン株式会社内			(72)発明者 井阪 和夫 東京都大田区下丸子3丁目30番2号キャノ ン株式会社内	